Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
an der Philipps-Universität zu Marburg a. d. Lahn
Direktor: Professor Dr. Ruete

Untersuchungen über die Verhinderung des Pleomorphismus der Dermatomyzeten

(Prüfung der Ergebnisse mit biologischen Pilznährböden
nach Dr. H. Hruszek, Leverkusen)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
einer hohen medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg a. d. Lahn

vorgelegt von

Helmut Busch
approbierter Zahnarzt aus Düsseldorf

Angenommen
von der
Medizinischen Fakultät der Philipps-Universität
in Marburg/Lahn
am 4. März 1938

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Referent Professor Dr. Ruete.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Durch zahlreiche Publikationen ist die merkwürdige Tatsache bekannt, daß eine Reihe von Pilzstämmen bei der Kultivierung auf natürlichen und künstlichen Nährböden der pleomorphen bzw. duvetösen Entartung verfällt. Jedoch ist die Ursache und das Wesen des Pleomorphismus bisher wenig geklärt. Bei Durchsicht der einschlägigen Literatur, vom Standardwerk der Mykologie — Sabouraud's „Les Teignes", bis zu den Veröffentlichungen der letzten Zeit, begegnet man immer wieder den bezüglich des Pleomorphismus und seiner Verhütung sich aufwerfenden Problemen.

Ueber den Pleomorphismus schreibt Sabouraud: „Pleomorphismus ist die Veränderung, die viele Pilzkulturen erfahren, wenn sie ein längeres Wachstum, namentlich auf zuckerhaltigen Nährböden, durchmachen. Es bildet sich zunächst auf einzelnen Stellen, sei es mehr zentral, sei es von der Peripherie ausgehend, ein weißes flaumiges Luftmycel, das sich mehr oder weniger schnell über die ganze Kolonie ausdehnt und die eigentliche Oberfläche der Kultur ganz verdeckt. Der Pleomorphismus ist die Erscheinung einer irreversiblen Mutation der Kultur. Bei Ueberimpfung einer duvetösen Kultur auf neuen Nährboden, erhält man fast immer wieder einen solchen Flaum und die Weiterzüchtung der speziellen Kultur in ihrer ursprünglichen Form ist meist verloren."

Diese Beobachtungen und die Feststellung Cazalbou's, daß das Flaumigwerden der Dermatomyzetenkulturen eine Folge ungünstiger Lebens- und Ernährungsbedingungen sei, deuten darauf hin, daß die Hauptursache der pleomorphen Entartung im Nährbodenfaktor zu suchen ist. — Zahlreiche Autoren waren daher bemüht, Nährböden herzustellen, auf denen der Pleomorphismus nicht, oder wenigstens verspätet, eintrat.

Sabouraud, der auf seinem Maltoseagar (milieu d'épreuve) das Flaumigwerden mancher Pilzstämme beobachten konnte, stellte einen Peptonagar her,

Wasser	1000 g
Peptone granulée von Chassaing in Paris	30 g
Agar	18 g,

der die Art der Kulturen erhalten sollte, sie vor dem Flaumigwerden bewahren (milieu de conservation).

C. Bruhns und A. Alexander schreiben über diesen Nährboden: „In der Tat gelingt es oft genug, wenn man auf den kohlehydrathaltigen Nährböden schon vollkommen flaumige Entartung einer Kultur bekommen hat, von der gleichzeitig angelegten Kultur auf Peptonnährböden durch Uebertragung auf Maltoseagar wieder Kolonien von ursprünglichem Aussehen zu gewinnen. Andererseits ist auch zu beobachten, daß einige Pilzarten gerade auf Peptonnährböden besonders charakteristisches Wachstum zeigen." Sabouraud selbst sagt, daß der Peptonnährboden geeignet wäre, den Pleomorphismus der Kulturen über Jahre hinaus zu verhüten, selbst bei solchen Kulturen, bei denen eine besondere Neigung zur Flaumbildung bestehe.

M. Langeron schreibt: „Der Pleomorphismus ist keine notwendige, sondern eine zufällige, vom Nährboden abhängige Begleiterscheinung unserer Kulturen. — Auf Peptonnährböden tritt sie, wie Sabouraud gezeigt hat, und ich durch manche Versuche feststellen konnte, nicht ein." — So hat es den Anschein, als wäre mit dem Sabouraud'schen Nährboden den Mykologen das Kulturmedium zur Verhinderung des Pleomorphismus gegeben.

L. Grigoracis, der einmal im Gegensatz zu Sabouraud den Standpunkt vertritt, daß alle Pilze, sobald sie auf ein Nährmedium gebracht werden, Degenerationserscheinungen zeigen, die, wenn nicht sofort, so doch in der 2. oder 3. Subkultur allmählich zur Form des sterilen Flaumes (Pleomorphismus) führen, erklärt sodann unter Bezugnahme auf mehrere Versuchsreihen, daß Sabouraud's milieu de conservation keineswegs die Arten auf die Dauer erhalte.

Diese Feststellung bestätigt auch der Leiter des holländischen Pilzlaboratoriums, de Baarn. — „Der Nährboden Sabouraud's", so schreibt Grigoracis, „dürfte wohl bezüglich der Verhinderung der Pleomorphie nicht als das vollkommene Kulturmedium gelten.

Grütz empfiehlt einen Nährboden, der dem Sabouraud'schen milieu de conservation ähnlich ist, aber mit deutschem Pepton hergestellt wird und erfüllt damit gleichzeitig eine Forderung, die besonders zur Zeit des Weltkrieges, als die Beschaffung der französischen Bestandteile des Sabouraud'schen Nährbodens nicht möglich war, in Kreisen der Wissenschaft laut wurde.

Pepton-Nährboden nach Grütz: Pepton Knoll 30 g
1,8%igen Agar 1000 g.

Ueber die Erfahrungen mit dem Grütz'schen Nährsubstrat schreiben C. Bruhns und A. Alexander u. a.: „Die Kulturen zeigen zumeist ein sehr charakteristisches Wachstum und wenig Neigung zu Pleomorphie." Autoren, wie Karrenberg, Engelhardt und Hartmann beurteilen ebenfalls den Grütz'schen Nährboden in Bezug auf das Wachstum der

Kulturen günstig. Engelhardt hebt hervor, daß auf Grütz'schem Pepton-Nährboden die Erscheinung des Pleomorphismus bedeutend später einsetzt, als auf den kohlehydrathaltigen Nährmedien (Versuche mit Trichophyt. gyps. und Achorion gyps.).

Pollacci hat einen Nährboden angegeben, der sich von den bisher angeführten prinzipiell dadurch unterscheidet, daß er noch Rindfleischsaft enthält.

500 g Rindfleisch werden mit 1 l aqua dest. 1 Stunde lang gekocht, dann filtriert,

dazu

Pepton Witte 10 g
Na Cl 5 g.

Nach Alexander ist das ein Nährboden, der zwar nicht zur Diagnosestellung unbekannter Arten benutzt werden kann, da auf ihm das von anderen Nährsubstanzen geläufige charakteristische Aussehen der Kulturen oft ganz verloren geht, der aber den Pleomorphismus etwas hintanzuhalten scheint.

Kohlenberger und Karrenberg probierten einen Gehirnbreiagar aus, durch den sie zwei pleomorph gewordene Dermatomyzeten-Kulturen wieder in ihre alte Form zurückführen konnten. Gleichzeitig greifen die Autoren damit die Feststellung Sabouraud's an, daß der Pleomorphismus eine irreversible Mutation sei.

M. Langeron und S. Milochevitch untersuchten die Entwicklung der Dermatomyzeten auf natürlichen Nährböden und auf solchen mit Polysacchariden als Grundlage. Sie brachten 4 Spezies von Dermatomyzeten: 3 Trichophyten der Gruppe Gypseum (Sabouraudites asteroides), S. granulosus, S. lacticolor) und 1 Achorion (Sabouraudites gypseus) auf 18 verschiedene Nährböden: 5 aus Getreidekörnern, aus Stroh, Getreidegrannen und Pferdemist, 8 mit löslichen Stärken oder Dextrinen, mit Pepton oder ohne, mit Salz oder ohne, 2 mit Mehlgrundlage, 1 mit Brotgrundlage.

Die Auswertung der Versuche ergab zunächst, daß Dermatomyzeten auf natürlichen Kulturmedien eine viel exaktere mikroskopische Morphologie zeigen, als auf den klassischen (Sab. milieu d'épreuve). Weiter konnten die Autoren feststellen, daß keine der kultivierten Spezies, die auf dem klassischen Zuckernährboden so leicht pleomorph werden, auf den von ihnen benutzten Nährböden eine Neigung zum echten Pheomorphismus zeigten. Ablesungen, die 3 Monate nach der Ueberimpfung vorgenommen wurden, ergaben: Kein Vorkommen des Pleomorphismus.

Zur Verhinderung des Pleomorphismus empfehlen die Autoren

a) natürliche Nährböden: Getreidekörner, Pferdemist und Champignon (Psalliota campestris).

b) künstliche Nährböden: Agar mit Kornmehl und mit Polysacchariden (lösliche Stärke oder gewöhnliches Dextrin).

Sie betonen jedoch, daß diese Nährböden die klassischen, von Sabouraud angegebenen, die zur vergleichenden Untersuchung und zur Artbestimmung unbedingt erforderlich sind, nicht überflüssig machen.

In gleicher Linie bewegen sich die Versuche Brocq-Rousseu's, Ach. Urbain's und J. Barotte's. Die Forscher kultivierten ein Trichophyton gypseum auf Pflanzenstückchen, Horn, trockenem Mist, auf Haferkörnern und auf mit Aehren versehenen Getreidestrohstückchen. Es wurden Sporenemulsionen in die Kulturröhrchen verteilt und sie keimten überall üppig aus. Das Auftreten des Pleomorphismus konnte, im Vergleich zu den künstlichen Nährmedien, zeitlich hinausgeschoben werden.

A. Catanei stellte Beobachtungen an über das Wachstum der Dermatomyzeten, besonders über die Erscheinung der duvetösen Entartung. Er legte Kulturen auf verschiedenen Nährböden an. Außer Sabouraud'schem Pepton-Agar benutzte er Kartoffelnährböden, Glyzerinkartoffeln, Eiweißnährböden, koaguliertes Serum, Dextrin-Agar. Es ergab sich die Möglichkeit, einige Pilzstämme, die auf Sabouraud'schem Nährboden durchweg geringes Wachstum zeigten, auf den angegebenen zu schöner Kultur zu bringen (Versuche mit einem Tr. album aus dem Genus Tr. Malmsten). Es gelang nicht, den Pleomorphismus zu verhindern. Nach 2—3 monatigem Wachstum wurden die Kulturen durchweg flaumig. Versuche, durch wiederholte Umimpfungen die frühere Form der Kulturen zurückzugewinnen, verliefen negativ. Hier eine Bestätigung der von Sabouraud gemachten Feststellung, daß einmal pleomorph gewordene Stämme sich nicht mehr zu ihrer eigentlichen Kulturform zurückbringen lassen.

Mehr in biologischem Gedankengange bewegen sich die Versuche W. Jadassohn's, der Pilze auf Organen züchtete. Er konnte u. a. ein Trichophyton gypseum auf excidierten Hautstückchen sehr gut zum Wachstum bringen. Er bediente sich sterilisierter Menschen- und Meerschweinchenhaut, die steril entnommen wurde. Aber auch auf steril entnommener Meerschweinchenleber, -niere und -milz zeigte sich gutes, sehr typisches Wachstum. Neigung zu pleomorpher Entartung konnte Jadassohn nicht feststellen.

Es folgten noch viele Versuche, das Problem der Verhinderung des Pleomorphismus der Dermatomyzeten einer Lösung entgegenzuführen, des Pleomorphismus, der nach dem heutigen Stande der Forschung wohl mit Sicherheit als eine Funktion des Nährbodens anzusehen ist.

In jüngster Zeit sind es H. u. Kl. Hruszek, die die Aufmerksamkeit der Fachkreise auf sich lenken. In Nr. 8 der Derm. Wochenschrift, Jahrg. 1936, veröffentlichten sie eine Abhandlung „Ueber die Lebensdauer der

Dermatomyzeten und die Verhinderung des Pleomorphismus." Die Autoren machen hierin die Resistenz der Dermatomyzeten gegenüber Zeiteinwirkungen zum Gegenstand experimenteller Arbeiten. Es wurde Kulturmaterial verschiedener Pilzstämme (u. a. Trichophyton gypseum, Achorion gypseum, Carate-Stamm) ohne Nährboden abgetragen. Von jedem Stamm wurden Proben in sterile Glasröhrchen eingebracht, die Röhrchen dann an ihren Enden im Bunsenbrenner luftdicht verschlossen. Den Inhalt der Röhrchen verimpften die Autoren in bestimmten Zeitabständen zur Prüfung der Kultivierungsfähigkeit auf eine Anzahl Futterrübenschnitte. Die Autoren stellten fest, daß das Trich. Gyps. eine etwa 7 Monate und der Ach. Gyps.- und Carate-Stamm eine über 1 Jahr lange Lebensdauer aufwiesen. Besonders hervorgehoben wird das mit dem Achorion gypseum erzielte Kulturergebnis. Das Achorion gypseum, das bei der Züchtung auf künstlichen und natürlichen Nährböden im allgemeinen schon innerhalb einer Wachstumsdauer von einem bis einigen Monaten pleomorph entartet, ergab hier nach einem Jahr eine durchaus positive Kultur. Das Achorion gypseum ist also, nach Angabe der Verfasser, nicht nur über ein Jahr lang kultivierbar, sondern liefert nach einem solchen Zeitraum noch eine gypsige, d. h. typische Passagekultur. Bewahrt man also das Achorion gypseum in sterilen, luftdicht verschlossenen Glasröhrchen auf, dann kann man aus diesem Material noch nach Ablauf von einem Jahre eine nicht pleomorph wachsende Kultur erhalten. Auf diese Weise wäre nach den Angaben von H. u. Kl. Hruszek nicht nur der Laboratoriumsbetrieb vereinfacht (Wegfall der allzu häufigen Ueberimpfungspflicht), sondern gleichzeitig die Gefahr des Pleomorphwerdens der Dermatomyzeten vermindert.

Erfahrungen mit dieser von den Autoren angewandten Kulturmethodik sind bis heute in der Literatur noch nicht verzeichnet.

Einen weiteren Beitrag zu dem Problem der Verhinderung des Pleomorphismus lieferte H. Hruszek mit einer Veröffentlichung in Nr. 19 der Derm. Wochenschrift 1936, betitelt: „Untersuchungen über die pleomorphe Entartung von Dermatomyzeten" („Biologische Pilznährböden)".

Hruszek erwähnt in dieser Mitteilung zunächst einige der oben genannten Autoren, die sämtlich die Hauptursache der pleomorphen Entartung im Nährbodenfaktor sahen und von dieser Seite aus eine Lösung des Problems anstrebten.

Hruszek beschreibt sodann seine Versuche mit biologischen — genauer „biologisch modifizierten" — Nährböden. Bevor jedoch auf die Versuche eingegangen wird, sei dieses, immerhin auf neuer gedanklicher Voraussetzung beruhende Kulturmedium einer Betrachtung unterzogen:

In einer Abhandlung „Versuche über eine — biologische — Nährbodenzubereitung für Bakterien", geht Hruszek von der Tatsache aus, daß die

Zubereitung der in der bakteriologischen Kulturtechnik gebräuchlichen Nährböden meist recht umständlich sei, außerdem käme diesen Nährböden der Nachteil zu, daß sie oft eine Reihe Zusatzsubstanzen enthielten (Blut, Ascites, Pepton, Organe usw.), deren Beschaffung oft mit Schwierigkeiten verbunden sei oder kostspielig wäre. Um diese Nachteile auszuschalten und dennoch brauchbare Nährböden zu gewinnen, untersuchte der Verfasser die Brauchbarkeit einer Reihe flüssiger und fester Nährböden, die aus Naturprodukten hergestellt werden. Hruszek gewann Preßsaft von Zwiebeln, Spinat, Gurken, Kürbis, roten Rüben, Futterrüben, von Rettich, Sellerie, Mohrrüben und Kartoffeln und konnte auf dem jeweiligen Saft-Agar (Sterilisation des Preßsaftes und Zugabe von 2% Agar-Agar) zufriedenstellende Kulturergebnisse erzielen. Weitere Versuche führte der Autor mit einem gekochten und durch wiederholtes Filtrieren satzfrei gewonnenem Zwiebelsaft durch, den er auf 12 sterile Glaskölbchen verteilte. Die einzelnen Saftproben wurden sodann mit verschiedenen Keimen (Hefe- und Bakterienstämme) beimpft, ein Kölbchen wurde unbeimpft aufbewahrt. Im Anschluß an die Beimpfung kamen sämtliche Kölbchen für die Dauer von 36 Stunden bei 37° in den Brutschrank. Nach Zugabe von 2% Agar-Agar und anschließender Sterilisation wurden die Platten ausgegossen und diese mit verschiedenen Bakterien beimpft. So ist ein Saftagar-Nährboden entstanden, der durch vorangegangene Züchtung verschiedener Keime eine Modifikation erfahren hat. Die Nährbodenveränderung kam durch einen biologischen Vorgang zustande, wie ihn das Wachstum von Erregern darstellt. Es kann somit von einem biologisch modifiziertem Nährboden gesprochen werden. Die Resultate der angelegten Kulturen wurden nach 48stündigem Wachstum notiert. Es konnte festgestellt werden, daß derselbe Saft durch die Vorbeimpfung mit Hefe- und Bakterienkulturen in seinen verschiedenen Proben sowohl von einem Stamm zum anderen, wie im Vergleich zum unbeimpften Kontrollsaft beträchtliche Veränderungen erfuhr. Diese Modifikationen gaben sich in verschiedenartiger Beeinflussung in der Kulturgröße und Farbe derjenigen Bakterien kund, die auf diese Proben nach Agar-Zugabe verimpft wurden. Die erzielte Nährbodenveränderung kam nicht nur in einem verschiedenen quantitativen Wachstum der Kulturen zum Ausdruck, sondern auch im verschiedenen Ausfall der Pigmentbildung. Es kommt, so konnte der Verfasser weiter feststellen, das eine Mal zur Hemmung, das andere Mal zur Förderung des Wachstums. Je nach dem inoculierten Stamm resultiert ein verbesserter oder verschlechterter Nährboden.

Dieser Befund gab den Anlaß und bildete gleichzeitig die Voraussetzung zu den Versuchen, die in der oben erwähnten Abhandlung „Untersuchungen über die pleomorphe Entartung von Dermatomyzeten" von H. Hruszek beschrieben werden. Der Verfasser benutzte, wie in den Bakterienkultur-

Versuchen, einen gekochten und durch wiederholtes Filtrieren satzfrei gewonnenen Zwiebelsaft, der in sterilem Zustande in 12 sterile Glaskölbchen abgefüllt worden war. Im Anschluß daran wurden die einzelnen Saftproben mit je einem Hefe- oder Bakterienstamm beimpft (Anlegen der Vorkultur). Der Verfasser benutzte dazu:

1. Weinhefe,
2. Bierhefe,
3. Preßhefe,
4. Milchzuckerhefe,
5. Bäckerhefe,
6. Torulopsis Cast.,
7. Monilia Lagos,
8. Monilia pinoysima,
9. Amoeba Hartmanella,
10. Bact. coli,
11. Bact. pyoceaneus.

Das 12. Kölbchen wurde als Kontrollnährboden unbeimpft gelassen.

Im Brutschrank entwickelten sich innerhalb von 36 Stunden in diesen flüssigen Nährböden die Hefen- und Bakterienkulturen. Jeder Kultur wurde — nach Sterilisation — 2% Agar-Agar zugesetzt. Diesen, jetzt „biologisch" modifizierten Nährboden, beimpfte H. Hruszek, nachdem er nochmals sterilisiert worden war, mit einem Achorion gypseum, dessen Tendenz zur flaumigen Entartung oben schon Erwähnung fand. Ablesungen, die nach 6 wöchentlichem Wachstum bei Zimmertemperatur vorgenommen wurden, ergaben, daß das Achorion gypseum auf dem nichtvorbeimpften Zwiebelsaft-Agar (12) schon flaumig entartet war, während es auf den übrigen Nährböden — bis auf den mit Stamm (7) vorbeimpften — noch einen gypsigen Bau aufwies. Eine zweite Ablesung (nach Verlauf von nochmals 6 Wochen) ergab, daß inzwischen auch auf einer Anzahl der umgewandelten Böden flaumige Entartung eingetreten war, daß aber auf den mit den Stämmen 1, 3, 5 und 8 vorbeimpften Böden, das Achorion gypseum noch einen gypsigen Bau aufwies. Im Anschluß an diesen Befund erklärt der Verfasser, daß Saft-Agar-Nährböden, auf denen das Achorion gypseum nach 6 Wochen langem Wachstum pleomorph entartet, durch die Vorkultur von Hefen oder Bakterien in dem Sinne „biologisch" modifiziert werden können, daß danach das Pleomorphwerden nach 12 Wochen noch nicht eintritt.

Von Herrn Professor Dr. R u e t e wurde mir die Aufgabe gestellt, diesen von H. Hruszek vorgezeichneten Weg zur

Verhinderung des Pleomorphismus der Dermatomyzeten

und damit die Versuche mit biologisch modifizierten Pilznährböden, nachzuprüfen.

Die hierzu notwendigen Versuche führte ich im Laboratorium der Universitätsklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten in Marburg a. d. Lahn durch. Zu Beginn wurden etwa 3 Pfund geschälte, feingehackte Zwiebeln durch ein Mulltuch gepreßt, die etwa 1 000 ccm Saft ergaben, der in einem großen Erlenmeyerkolben gekocht wurde. Hierauf wurde der Saft durch mehrere Lagen Watte solange filtriert, bis er sich als klar und satzfrei erwies.

Nach zweimaliger Sterilisation im Autoclaven, verteilte ich den sterilen Zwiebelpreßsaft zu je 100 ccm auf 8 sterile Erlenmeyerkölbchen von je 200 ccm Fassungsvermögen, die mittels Wattebausch verschlossen wurden. Zwecks Anlage der Vorkulturen beimpfte ich 7 dieser Saftproben mit verschiedenen Keimen, und zwar beimpfte ich

Kölbchen Nr. 1 mit Weinhefe,
„ „ 2 „ Bierhefe,
„ „ 3 „ Preßhefe,
„ „ 4 „ Bäckerhefe,
„ „ 5 „ Milchzuckerhefe,
„ „ 6 „ Bact. coli,
„ „ 7 „ Bac. pyocyaneus.

Das Kölbchen Nr. 8 bewahrte ich unbeimpft auf. Die 7 beimpften Kölbchen gab ich für 36 Stunden bei 37° in den Brutschrank. Nach Ablauf dieser Zeit konnte ich makroskopisch eine deutliche Veränderung meines Preßsaftes wahrnehmen: Der vor der Beimpfung einheitlich braunrote und durchsichtige Saft war durchweg trübe geworden und zeigte außerdem in den einzelnen Proben nun eine unterschiedliche Färbung.

Zur Inaktivierung der gewachsenen Kulturen wurde wieder im Autoclaven sterilisiert und danach allen Saftproben je 2% Agar-Agar zugesetzt. Nach nochmaliger Sterilisation wurde das Ausgießen der Böden vorgenommen. Ich verteilte hierbei den Inhalt eines Kölbchens jeweils auf 3 sterile Erlenmeyerkölbchen, sodaß insgesamt 24 Nährböden entstanden. Die Kölbchen wurden in Gruppen zu 3 Stück — je nach dem inoculierten Stamm — gesondert aufgestellt unter Beibehaltung der oben angegebenen Numerierung. Ich übertrug dann auf alle Böden Kulturmaterial eines Stammes Trichophyton gypseum. Die Kölbchen wurden wieder mit Wattebausch verschlossen und blieben bei Zimmertemperatur.

Der Kulturbefund, den ich 6 Wochen nach der Beimpfung aufnahm, ergab folgendes:

Auf den 3 Böden des mit Bäckerhefe vorbeimpften Zwiebelpreßsaftes (Nr. 4), sowie auf 2 Böden des nicht vorbeimpften Saftes (Nr. 8) hat sich, etwa kreisförmig um das aufgeimpfte Kulturmaterial, ein ungefähr 2 bis 3 mm breiter Saum von gypsigem Aussehen gebildet. Auf den übrigen 19 Nährböden ist der Kulturbefund negativ.

Bei einer zweiten Ablesung, nach weiteren 6 Wochen, zeigte es sich, daß auf den schwachen Kulturen auf den Böden der Säfte (Nr. 4 und Nr. 8) inzwischen eine starke Flaumbildung eingesetzt hatte. Die übrigen Böden ergaben wieder einen negativen Befund.

Zu diesen Ergebnissen sei folgendes bemerkt: Die beobachtete makroskopische Veränderung des Zwiebelpreßsaftes nach Beimpfung mit Hefe- und Bakterienstämmen läßt wohl den Schluß zu, daß die aufgeimpften Stämme sich in dem flüssigen Nährmedium zu guter Kultur entwickelten. Eine Bestätigung der von Hruszek gemachten Feststellung, daß Zwiebelpreßsaft einen guten Nährboden für die Züchtung von Bakterienstämmen abgibt. Was aber den Kernpunkt der Versuche, das Wachstum der Dermatomyzeten, die Verhinderung des Pleomorphismus durch biologisch modifizierte Nährböden betrifft, so stehen die Kulturergebnisse mit dem Trichophyton gypseum doch in starkem Gegensatz zu den Erwartungen, die man auf Grund der Kulturbefunde Hruszek's an den Ausfall der Kulturen knüpfen konnte. Auf rd. 80% der beimpften Nährböden zeigte der Pilz kein Wachstum. Die Nährböden, auf denen das Trichophyton gypseum zur Entwicklung kam, ließen nur die Bildung einer sehr schwachen Kultur erkennen, die überdies nach Ablauf von 12 Wochen völlig pleomorph entartet war. Der Pleomorphismus trat sowohl auf dem nichtvorbeimpften als auch auf dem mit Hefe-Stamm vorbeimpften Saft-Agar-Nährboden ein.

Es ist bekannt, daß einzelne Pilzstämme eine große Empfindlichkeit in Bezug auf die Nährbodenzusammensetzung aufweisen; es kann geschehen, daß es zufolge einer solchen Empfindlichkeit eines Pilzstammes auf einem, dem betreffenden Pilzstamme nicht zusagenden Kulturmedium, zu keinem Wachstum kommt.

Diese Empfindlichkeit einzelner Stämme erwähnt auch Hruszek in seiner Abhandlung „Vergleichende Kulturen von Pilzen auf verschiedenen neuen natürlichen Nährböden". Er konnte feststellen, daß auf Zwiebelsaftnährboden vereinzelte Stämme einen negativen Kulturbefund ergaben. Es ist daher zunächst naheliegend, die Ursache des negativen Ausfalls meiner Kulturversuche mit dem Trichophyton gypseum-Stamm in einer Empfindlichkeit dieses Stammes in Bezug auf die Nährbodenzusammensetzung zu suchen.

Um zu einwandfreien Prüfungsergebnissen zu kommen, ergab sich demnach die Notwendigkeit, noch mit einem anderen Dermatomyzeten-Stamm Kulturversuche durchzuführen. Ich benutzte diesmal ein Trichophyton violaceum. Die Herstellung des Preßsaftes, Anlegen der Vorkulturen, Numerierung, ausgießen und beimpfen der Böden, geschah in der oben geschilderten Weise. Die Ablesung, 6 Wochen nach der Beimpfung, ergab: Auf 2 Böden des mit Bierhefe vorbeimpften Nährbodens (Nr. 2), sowie auf 1 Boden des mit Bact. coli vorbeimpften Nährbodens (Nr. 6), hat sich je eine schwache

Kultur entwickelt, die in ihrem Zentrum eine violette, nach den Rändern zu mehr braune Färbung aufweist. Auf den übrigen 21 Böden ist der Kulturbefund negativ. 12 Wochen nach der Beimpfung hatten sich die Kulturen auf den 2 Böden (Nr. 2) sowie auf dem Boden (Nr. 6) mit einem leichten, graubraunen Flaum überzogen. Auf den übrigen Böden war der Kulturbefund wieder negativ.

Das Trichophyton violaceum zeigte also auf nahezu 90% der Nährböden kein Wachstum. Auf den insgesamt 3 Böden, auf denen es zur Bildung einer Kultur kam, trat nach Ablauf von 12 Wochen pleomorphe Entartung ein.

Die Kulturergebnisse auf biologisch modifizierten Nährböden, einmal mit einem Trichophyton gypseum, dann mit einem Trichophyton violaceum, sind im wesentlichen die gleichen. Der vorwiegend negative Kulturbefund ist demnach nicht auf die Empfindlichkeit eines einzelnen Stammes in Bezug auf die Nährbodenzusammensetzung zurückzuführen.

Ueber das Ergebnis meiner Versuche mit dem von H. Hruszek angegebenen biologisch modifizierten Pilz-Nährboden zur Verhinderung des Pleomorphismus der Dermatomyzeten wäre zusammenfassend zu sagen:

> Von 48, mit Dermatomyzeten-Kulturmaterial beimpften Nährböden, konnte nur auf 8 Nährböden eine Kultur erzielt werden. Sämtliche 8 Kulturen waren nach Ablauf von 12 Wochen pleomorph entartet.

Literaturverzeichnis

1. **C. Bruhns u. A. Alexander:** Handbuch f. Haut- u. Geschl.-Krankheiten, Bd. 11 Dermatomykosen.
2. **C. W. Emmons:** Pleomorphismus u. Variationen bei den Dermatophyten Arch. of Dermat. 1932, Bd. 25, S. 987—1001.
3. **L. Grigoracis:** Dermatophyten u. Dermatomykosen, Ann. de Dermat. 1929, Bd. 10, S. 18—68.
4. **L. Grigoracis:** Die Untersuchungen über die Dermatophyten und die Kritiken Saouraud's u. Langeron's. Ann. de Parasit. 1928, Bd. 6, S. 455—469.
5. **H. Hruszek:** Versuche über eine „biologische" Nährbodenzubereitung für Bakterien. Klin. Wschr. 1935, Nr. 52.
6. **H. Hruszek:** Untersuchungen über die pleomorphe Entartung von Dermatomyzeten. Dermat. Wschr. 1936, Nr. 19.
7. **H. Hruszek:** Vergleichende Kulturen von Pilzen auf verschiedenen neuen natürlichen Nährböden. Arch. f. Dermat. 1935, Bd. 171, S. 161 ff.
8. **H. Hruszek:** Ueber vergleichende Kulturen von Dermatomyzeten und anderen Erregern auf neuen vereinf. Nährböden. Arch. für Dermat. 1935, Bd. 171, S. 260 ff.
9. **H. Hruszek u. Kl. Hruszek:** Ueber die Lebensdauer der Dermatomyzeten und die Verhinderung des Pleomorphismus. Dermat. Wschr. 1936, Nr. 8.
10. **P. Kaschkin u. M. Petrow:** Zur Biologie der Dermatomyzeten. Mikrobiol. Zeitschr. 1930, Nr. 11.
11. **M. Langeron:** Neue Arbeiten über die Klassifikation der Dermatophyten. Ann. de Parasit. 1928, Bd. 6, S. 470—476.
12. **M. Langeron u. S. Milochevitch:** Morphologie der Dermatophyten auf natürlichen Nährböden und auf solchen mit Polysacchariden als Grundlage. Ann. de Parasit. 1930, Bd. 8, S. 465—508.
13. **J. A. Meriin:** Zur Variabilität der Dermatomyzeten. Mikrobiol. Zeitschr. 1930, Nr. 11.
14. **Sabouraud:** Les teignes, Paris 1910.
15. **Sabouraud:** Ueber die neue, von Grigoracis vorgeschlagene Klassifikation der Dermatophyten. Ann. de Parasit. 1928, Bd. 6, S. 455—469.

Lebenslauf

Am 14. Juli 1913 wurde ich in Düsseldorf als Sohn des Telegraphen-Inspektors Albert Busch und seiner Ehefrau, Margarethe geb. Haesler, geboren.

Nach vierjährigem Besuch der Volksschule in Düsseldorf kam ich Ostern 1923 auf die Goethe-Oberrealschule in Düsseldorf. An dieser Schule legte ich Ostern 1932 die Reifeprüfung ab. Anschließend studierte ich 8 Semester Zahnheilkunde. Davon 7 Semester an der Philipps-Universität zu Marburg/Lahn und 1 Semester an der Albert-Ludwig-Universität zu Freiburg i. Brsg.

An der Universität zu Marburg bestand ich im März 1934 die zahnärztliche Vorprüfung, im Mai 1936 das zahnärztliche Staatsexamen. Seit dem Staatsexamen bis ich als Assistent und Vertreter in zahnärztlichen Praxen tätig.

Meine akademischen Lehrer waren:

in Marburg: Baars, Baur †, Boeminghaus, Dabelow, Dittler, Eimer, Elbrecht, Fliege, Göppert, Grüneisen, Kunzendorff, Loebell, Meerwein, Nauck, Pfannenstiel, von Reckow, Rix, Seidel †, Versé,

in Freiburg: Faber, Scheidt.

Mathias Strucken, Düsseldorf 17